

AN 1990-377343 [51] WPIDS

DNC C1990-164347

TI Asymmetric redn. of ketone(s) in aq. soln. - using baker's yeast under aerobic conditions, with ethanol as energy source.

DC D16 E19

IN FUJIMORI, Y; KOMETANI, T

PA (DAIT) DAITO CORP; (DAIT) DAITO KOEKI KK

CYC 4

PI EP 400239 A 19901205 (199051)\*

R: CH DE LI

JP 02312593 A 19901227 (199107)

<--

ADT EP 400239 A EP 1989-307608 19890727; JP 02312593 A JP 1989-133950 19890526

PRAI JP 1989-133950 19890526

AN 1990-377343 [51] WPIDS

AB EP 400239 A UPAB: 19940921

The asymmetric redn. of ketones (I) is effected with baker's yeast (II) in aq. soln. under aerobic conditions using EtOH as energy source.

Pref. method is effected with (I) concn. not more than 50 esp. not more than 30 g/l; EtOH concn. 0.1-10 esp. 0.5-5 vol.%; and ratio EtOH: (I) = 1:1-10. The aq. soln. contg. (I) is pref. agitated while O<sub>2</sub> or an O<sub>2</sub>-contg. gas is blown through. Opt. both (I) and the EtOH are added in portions at predetermined time intervals so that the final (I) concn. is 15-30 g/l.

USE/ADVANTAGE - Evolution of CO<sub>2</sub> and the formation of by-prods. are suppressed, while yields of prod. and optical purity are at least as good as those from conventional methods. The process is suitable for use on a large scale. A typical prod. is (S)-(+)-ethyl 3-hydroxybutanoate. @ (Opp Dwg.No.0/3)

0/3

⑩ 日本国特許庁(J P)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平2-312593

⑬ Int. Cl. 5

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成2年(1990)12月27日

C 12 P 7/82

6742-4B

7/26

6742-4B

11/00

6742-4B

//(C 12 P 7/82

C 12 R 1:865)

(C 12 P 7/26

C 12 R 1:865)

(C 12 P 11/00

C 12 R 1:865)

審査請求 未請求 請求項の数 5 (全7頁)

⑮ 発明の名称 パン酵母によるケトン類の不斉還元反応方法

⑯ 特 願 平1-133950

⑰ 出 願 平1(1989)5月26日

特許法第30条第1項適用 昭和63年12月1日、第9回有機合成化学協会関東支部新潟シンポジウム実行委員会発行の「第9回有機合成化学協会関東支部新潟シンポジウム講演要旨集」に発表

⑱ 発 明 者 米 谷 正 富山県射水郡大門町大門4

⑲ 発 明 者 藤 森 幸 雄 富山県富山市八日町326番地 大東交易株式会社研究所内

⑳ 出 願 人 大東交易株式会社 富山県富山市八日町326番地

㉑ 代 理 人 弁理士 西 元 勝一

明 示 部 分

1. 発明の名称

パン酵母によるケトン類の不斉還元反応方法

2. 特許請求の範囲

(1) パン酵母によるケトン類の不斉還元反応において、還元剤のエネルギー源としてエチルアルコールを用い、好気性条件下でケトン類を基質として含む水溶液中で反応させることを特徴とするパン酵母によるケトン類の不斉還元反応方法。

(2) 前記基質が、水溶液中に50g/l以下の濃度となるように添加されることを特徴とする請求項(1)記載のパン酵母によるケトン類の不斉還元反応方法。

(3) 前記基質が、水溶液中に30g/l以下の濃度となるように添加されることを特徴とする請求項(2)記載のパン酵母によるケトン類の不斉還元反応方法。

(4) 前記エチルアルコールが、水溶液中に0.1~10%容量%となるように添加されることを特徴とする請求項(1)記載のパン酵母によるケトン類の不斉還元反応方法。

(5) 前記エチルアルコールが、水溶液中0.5~5容

量%となるように添加されることを特徴とする請求項(4)記載のパン酵母によるケトン類の不斉還元反応方法

3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は、パン酵母によるケトン類の不斉還元反応の工業的に有利な方法に関する。

〔従来の技術〕

パン酵母による不斉還元反応は、1980年頃から有機合成に利用されるようになり、約100種類程度の基質の例がある。特に、パン酵母によるケトン類の不斉還元反応はキラルシントンの簡便な製造法として汎用されており、そのような不斉還元反応の例としては、アセト酢酸エチルを還元し、(S)-(+)-エチル-3-ヒドロキシブチレートを得る反応が知られている。(Org. Synth., 63, 1(1984))この反応は、通常5~10%糖(グルコース、スクロースなど)水溶液中で実施されている。

〔発明が解決しようとする問題点〕

上記のように従来の方法においては、還元反応のエネルギー源として糖を用いている。そのため糖代謝の過程で大量の炭酸ガスおよび多種多様の副産物を有する副生成物を生成する問題がある。また、大量の炭酸ガスの発生によって泡が発生し、この泡を除去するために界面活性剤等からなる消泡剤を添加する試みもなされている。しかしながら、消泡剤の添加によって不斉還元反応以外の反応が生じ、所期の生成物が効率的に得られない問題がある。したがって、従来のように還元反応のエネルギー源として糖を用いる方法は、大量生産・実用化の点で解決すべき課題を有していた。

本発明の目的は、炭酸ガスの発生及び副生成物の生成を抑えて大量合成・実用化が可能であり、しかも糖をエネルギー源とする従来の不斉還元反応と同等乃至それ以上の収率及び生成物の光学純度を得ることが出来るパン酵母によるケトン類の不斉還元反応方法を提供することにある。

(問題点を解決するための手段)

本発明者は、パン酵母によるケトン類の不斉還

元反応においては、上記のような問題点があるためその解決方法を種々検討した結果、還元のエネルギー源としてエチルアルコールを用い好気性条件下に基質としてのケトン類を反応させることにより、従来の法と殆ど同様に還元反応が進行するにもかかわらず、炭酸ガスおよび副生成物の生成を抑えられることを見出し、本発明を完成したものである。

すなわち、本発明はパン酵母によるケトン類の不斉還元反応において、還元のエネルギー源としてエチルアルコールを用い好気性条件下にケトン類を反応させることを特徴とする還元反応方法である。

ここでパン酵母は、*Saccharomyces cerevisiae* (サッカロマイセス セレビジエ種属) に属する酵母であり、基質によって選択性が異なる。

基質としては、糖をエネルギー源として用いたパン酵母還元が進行するカルボニル基を有する基質については全て適用可能である。具体的には本発明の還元反応方法は、グルコース、スクロースに代表される糖の水溶液中でパン酵母によって不斉還元を受

- 3 -

ける反応(有機合成化学協会誌 44巻、5号、519(1985)および46巻、8号、725(1988)に多くの反応例がまとめられている)に対し特に限定することなく適用することが出来る。このような還元反応の代表例としては、前述のアセト酢酸エチルから(S)-(+)-エチル-3-ヒドロキシブチレートを得る反応があげられる。さらにその他の例としては2-オキシシクロヘキサノカルボン酸エチルエステルから(+)-(1R, 2S)-シス-2-ヒドロキシシクロヘキサノカルボン酸エチルエステルへの還元[Heilw. Chlm. Acta Vol 68, 1383, (1980)], 1-クロロ-3-フェニルスルホニル-2-プロパノンから(2R)-1-クロロ-3-フェニルスルホニル-2-プロパノールへの炭化[Synthesis 389(1987)], 2-アセトキシ-1-フェニルエタノンから(S)-(+)-2-アセトキシ-1-フェニルエチルアルコールへの炭化[J. Org. Chem. Vol 53, 4405(1988)]などの反応があげら

れる。

このようなケトン類の不斉還元反応において適用される基質は、反応系の水溶液中に50g/l以下の濃度となるように添加され、また、望ましくは水溶液中に30g/l以下の濃度となるように添加される。特に基質が反応系の水溶液中に15g/l~50g/l、望ましくは15g/l~30g/l添加される場合、基質濃度が高くなり、例えば反応途中で大量合成する場合に極めて有効となる。因みに従来の糖をエネルギー源とする不斉還元反応では、基質濃度が高くなれば、これに対応して糖の添加量も増大し、炭酸ガスの発生及び副生成物の生成も増大するため、大量合成実用化が困難となる。

不斉還元反応に使用されるエチルアルコールは、反応系の水溶液中に0.1~10容量%、望ましくは0.5~5容量%添加される。エチルアルコールの添加量が0.1容量%よりも少ないと、エネルギーが不足して不斉還元反応速度が低下し、一方アルコールの添加量が10容量%よりも多くなると、酵母中の酵素が失活していき、反応が極めて遅くな

- 5 -

-598-

- 6 -

る。

また、蒸留に対するエチルアルコールの添加割合は、1:1~1:10が好適である。

次に本発明の不斉還元反応においては、反応系を好気性条件下に保持することが必要であり、このためには、例えば大気合成を所従とする反応槽では上記各成分を含む水溶液を攪拌すると同時に酸素、又は酸素を含むガス（例えば空気）を水溶液中に注入する手段を採用することができる。

そして、上記のような好気性条件を維持した状態で、例えば蒸留速度を水溶液に対して15~30g/ℓと高くする場合には蒸留速度に応じて2~数回程度に分け、蒸留をエチルアルコールと共に反応系の水溶液中に所定時間の間隔をおいて添加し、最終濃度を15~30g/ℓとすることが望ましい。

さらに不斉還元反応系の水溶液中には反応液のpHをコントロールするために必要に応じて緩衝剤等を添加することができる。緩衝剤の添加によって反応液のpHをコントロールでき、不斉収率等を改善できる利点が生じる。

- 7 -

進行し、エチルアルコールは反応時間の経過によって消費されており、生成物の単収率は60~70%、純光度は+38.50以上、(ee>90%)であった。

次に第3図は不斉還元反応のエネルギー源としてのエチルアルコールと他のアルコールを対比したものである。第3図において○はエチルアルコール、△はメチルアルコール、□はノルマルプロピルアルコール、●はノルマルブチルアルコール、▲はステレングリコール、■はグリセリンである。第3図から明らかなようにエチルアルコールは他のアルコールに比べて反応時間の経過によって生成物の生成量が次第に大きくなっており、エチルアルコールが他のアルコールに比べて本発明の不斉還元反応に有効であることを示している。

#### 〔実施例〕

以下、本発明を実施例によって更に詳細に説明する。

#### 実施例 1

パン酵母（オリエンタル醸造社製生イースト）2、

第1図は、300ミリモルのグルコースと、70ミリモルのアセト酢酸エチルを含む基質とパン酵母を30℃で振盪させたときの状況を示したものである。

第1図において、○は生成物、●はエチルアルコールである。第1図から反応生成物（CH<sub>3</sub>CH(OH)CH<sub>2</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>）は反応時間の経過と共に増大し、逆にグルコースは反応時間の経過と共に減少し、エチルアルコールの生成量は急激に増加し、

グルコースが消失しても生成物は増大している。

第1図の結果からグルコースの解糖系で生成したエチルアルコールが不斉還元反応に大きな役割を果しているものと推論した。

第2図は、200ミリモルのエチルアルコールと77ミリモルのアセト酢酸エチルを含む基質を30℃で振盪させたときの状況を示したものである。

第2図において、○は生成物、●はエチルアルコールである。

第2図から明らかなように不斉還元反応は順調に

- 8 -

8gを蒸留水50mlに懸濁しておき、その中にアセト酢酸エチル0.5gとエチルアルコール0.576mlの溶液を加え30℃で10時間振盪した。セライト2.8gを加え室温で1時間マグネチックスターラーで攪拌した後、吸引ろ過し、ろ液を食塩で飽和した。ついでエーテル25mlで3回抽出した後、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、ろ過、溶媒を減圧下で留去。残留物を減圧蒸留して(S)-(+)-エチル3-ハイドロキシブタン-2-シレート0.985g(67%)を得た。

b.p.: 80~85℃ (20 mm Hg)

IR: 3450 cm<sup>-1</sup>, 1730 cm<sup>-1</sup>

NMR (CDCl<sub>3</sub>)

1. 18 (3H, d, J=6 Hz)

1. 24 (3H, t, J=7 Hz)

2. 35 (2H, d, J=8 Hz)

3. 58 (1H, s)

4. 10 (2H, q, J=7 Hz)

4. 10 (1H, m)

(α)<sub>D</sub><sup>20</sup> +41.63° (C=1.00, CHCl<sub>3</sub>)

- 9 -

- 599 -

- 10 -

特開平 2-312593(4)

実施例 2

アセト酢酸エテルの代わりにエチル 2-オキシシクロヘキサンカーボネート 0.5 g を用い、24 時間振盪した以外は実施例 1 同様にしてエチル (+)-(1R, 2S)-2-ハイドロキシシクロペンタンカルボキシレート 0.34 g (58%) を得た。

b.p.: 100~110°C (5 mmHg)

IR: 3450 cm<sup>-1</sup>, 1740 cm<sup>-1</sup>

NMR: (CDCl<sub>3</sub>)

1.28 (9H, t, J=7 Hz)

1.20-2.00 (8H, m)

2.40-2.60 (1H, m)

3.10 (1H, br)

4.05-4.20 (1H, m)

4.18 (2H, q, J=8 Hz)

(α)  $\delta$ +25.87° (C=1.23, CHCl<sub>3</sub>)

実施例 3

アセト酢酸エテルの代わりにエチル 2-オキシシ

- 11 -

-ハイドロキシ-1-フェニル-1-プロパノン 0.38 g (75%) を得た。

b.p.: 130~140°C (20 mmHg)

IR: 3400 cm<sup>-1</sup>, 1710 cm<sup>-1</sup>

NMR: (CDCl<sub>3</sub>)

1.04 (3H, d, J=6.5 Hz)

3.80-4.10 (1H, m)

4.62 (1H, d, J=4 Hz)

7.31 (5H, s)

(α)  $\delta$ -39.40° (C=1.01, CHCl<sub>3</sub>)

実施例 5

アセト酢酸エテルの代わりに 1-クロロ-3-フェニルスルホニル-2-プロパノン 0.5 g を用い、24 時間振盪した以外は実施例 1 同様にして (2R)-(+)-1-クロロ-3-フェニルスルホニル-2-プロパノール 0.975 g (75%) を得た。

m.p.: 87~89°C

IR: 3500 cm<sup>-1</sup>

- 13 -

クロペンタンカルボキシレート 0.5 g を用い、12 時間振盪した以外は実施例 1 と同様にしてエチル (+)-(1R, 2S)-2-ハイドロキシシクロペンタンカルボキシレート 0.35 g (70%) を得た。

b.p.: 100~110°C (5 mmHg)

IR: 3450 cm<sup>-1</sup>, 1730 cm<sup>-1</sup>

NMR: (CDCl<sub>3</sub>)

1.20 (3H, t, J=7 Hz)

1.40-2.05 (6H, m)

2.45-2.75 (1H, m)

2.60-3.00 (1H, br)

4.10 (2H, q, J=7 Hz)

4.15-4.40 (1H, m)

(α)  $\delta$ +14.99° (C=1.20, CHCl<sub>3</sub>)

実施例 4

アセト酢酸エテルの代わりに 1-フェニル-1,2-プロパンジオン 0.5 g を用い、12 時間振盪した以外は実施例 1 同様にして (S)-(-)-2

- 12 -

NMR: (CDCl<sub>3</sub>)

3.30-3.45 (3H, m)

3.55-3.70 (2H, m)

7.50-8.00 (5H, m)

(α)  $\delta$ +13.50° (C=1.00, CHCl<sub>3</sub>)

実施例 6

アセト酢酸エテルの代わりに 2-アセトキシ-1-フェニルエタノン 0.5 g を用い、10 時間振盪した以外は実施例 1 同様にして (S)-(+)-2-アセトキシ-1-フェニルエタナルアルコール 0.36 g (72%) を得た。

b.p.: 140~150°C (3 mmHg)

IR: 3450 cm<sup>-1</sup>, 1730 cm<sup>-1</sup>

NMR: (CDCl<sub>3</sub>)

1.97 (3H, s)

3.40 (1H, br)

4.05-4.25 (2H, m)

4.75-4.95 (1H, m)

- 14 -

-600-

7. 30 (5H, s)

(α) 3 + 56.05° (C = 1.01, CHCl<sub>3</sub>)

## 実施例 7

パン酵母（オリエンタル酵母社製生イースト）2.8gを蒸留水50mlに懸濁しておき、その中にアセト酢酸エチル0.375gとエチルアルコール0.43mlの溶液を加え、30℃で8時間振盪した。更にアセト酢酸メチル0.375gとエチルアルコール0.43mlを加え30℃で8時間振盪した。セライト2.8gを加え室温で1時間マグネチックスターラーで攪拌した後、吸引ろ過、ろ液を食塩で飽和した。ついでエーテル2.5mlで3回抽出した後、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥、ろ過し、溶媒を減圧下で留去し、残留物を減圧蒸留して(S)-(+)-エチル3-ハイドロキシブタノキシレート0.6g(67%)を得た。

生成物を分析した結果、実施例1と全く同一であることを確認した。

- 15 -

## 実施例 9

アセト酢酸エチルの代わりにエチル2-オキソシクロペンタンカルボキシレートを用い、これを蒸留水1mlに対して10gずつ3回に分けて合計30gを添加し、実施例8と同様にして計72時間反応することによって、エチル(+)-(-1R, 2S)-2-ハイドロキシシクロペンタンカルボキシレート2.1g(70%)を得た。

得られた生成物を分析した結果、実施例8のものと同一であることを確認した。

## 実施例 10

アセト酢酸エチルの代わりに2-アセトキシ-1-フェニルエタノールを用い、これを蒸留水1mlに対して10gずつ3回に分けて合計30gを添加し、実施例8と同様にして、計72時間反応することにより、(S)-(+)-2-アセトキシ-1-フェニルエチルアルコール2.1g(72%)を得た。

## 実施例 8

パン酵母（オリエンタル酵母社製生イースト）112gに蒸留水1mlを加え、マグネチックスターラーで緩やかに攪拌、さらに小型ポンプで空気を懸濁液中に送り込みながら(1.5L/min)、アセト酢酸エチル10gとエチルアルコール11.5mlの溶液を加え30℃で反応を行った。24時間後同様にアセト酢酸メチル10gとエチルアルコール11.5mlの溶液を追加した後、24時間反応を行った。さらにアセト酢酸エチル10gとエチルアルコール11.5mlの溶液を加え、次にセライト112gを加え室温で1時間マグネチックスターラーで攪拌した後、吸引ろ過、ろ液を食塩で飽和した。ついでエーテル300mlで3回抽出した後、有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥、ろ過し、溶媒を減圧下で留去し、残留物を減圧蒸留して(S)-(+)-エチル3-ハイドロキシブタノキシレート1.8g(60%)を得た。

生成物を分析した結果、実施例1と全く同じであることを確認した。

- 16 -

生成物を分析した結果、実施例6と全く同じであることを確認した。

## 〔発明の効果〕

以上のように本発明によれば、ケトン類の不斉還元反応のエネルギー源としてエチルアルコールを用いるために鍵をエネルギー源とする従来法における炭酸ガスの発生及び副生成物の生成を抑制し、収率を高くすることができ、大量合成・実用化に極めて有効である。

## 4. 図面の簡単な説明

第1図はグルコースをエネルギー源とした不斉還元反応の状況を示すグラフ、第2図はエチルアルコールをエネルギー源とする不斉還元反応の状況を示すグラフ、第3図は不斉還元反応におけるエネルギー源としてのエチルアルコールを他のアルコールと対比して示すグラフである。

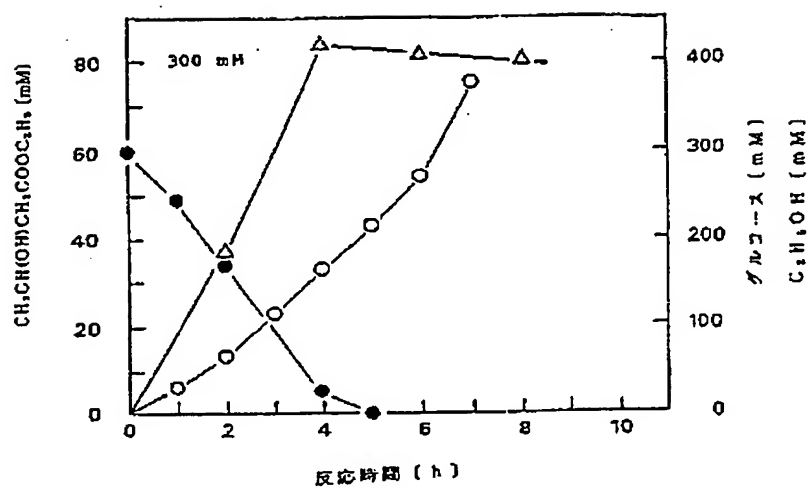
代理人 弁理士 西 元 勝 一

- 17 -

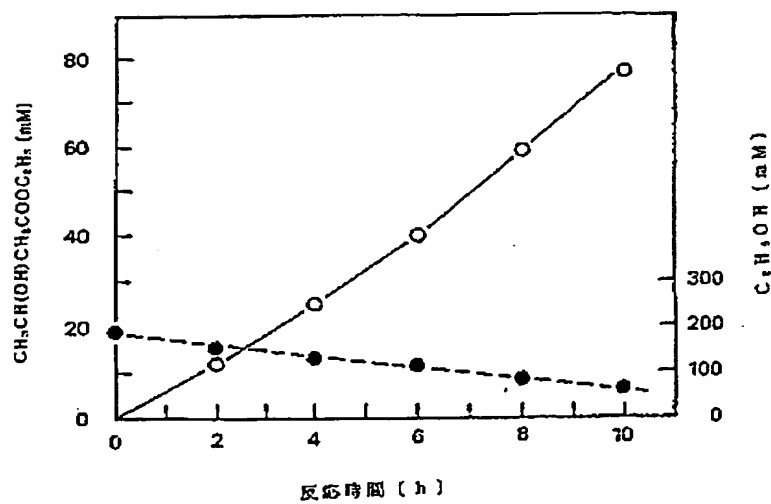
- 601 -

- 18 -

第 1 図



第 2 図



第 3 图

